天净沙系列

CAT#:220144

常温运输和保存

天净沙

硅胶膜离心吸附柱

Silica Membrane Centrifuge Column

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址：www.bingene.com；电话：400-6005850；电邮：order@bingene.com

产品及特点

本产品为硅胶膜离心吸附柱（13 层），可用于常见的柱式核酸提取。本产品由收集管、吸附柱、聚乙烯垫片、硅胶膜四部分组成。它具有下列特点:

1. 收集管体积为 2 mL，吸附柱最大上样量 750 μL。
2. 本产品不含 DNase/RNAse。
3. 硅胶膜的核酸载量小于等于 10 μg。
4. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用带 logo 塑料袋包装

成份	编号	包装	包装
硅胶膜离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋
使用手册	220144sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，有效期三年。

自备试剂

无

使用方法

以在液体样本 RNA 提取中的应用为例，仅供参考:

1. 如果有 N 个样品，标记 N+2 个 1.5-2 mL 螺旋盖塑料离心管，多出的一个为阳性对照，一个为阴性对照。为避免污染，建议不要使用压盖式塑料离心管。在做标记时，最好标出向心面或离心面，以便在后续离心后取上清时 不会把沉淀丢失。
2. 各加入 0.2 mL 液体样品（血清、血浆、尿液、脑脊液、唾液、眼泪等等）。
   - 2.1、 如果是口腔拭子、咽喉拭子等各种拭子样品，则将拭子放入 0.2 mL 自备生理盐水中挤压出液体，然后取 0.2 mL 进行提取。
   - 2.2、 如果是粪便等半固定样品，则取约 0.3 mL 的样品，加入 0.3 mL 自备生理盐水，震荡重悬，离心取 0.2 mL 上清进行提取。
   - 2.3、 如果血液，细胞培养液等含细胞的液体，可以离心用上清，也可以直接取用，但后者提取的 RNA 中有细胞的基因组 DNA 污染。血浆的抗凝剂必须是 EDTA 或 ACD，不能是肝素。使用 ACD 时由于所加入 ACD 会增加体积，样品会被稀释，得到的病毒滴度会比使用 EDTA 低 15%左右。血浆最好按 0.6 mL/管的量分装保存，以避免反复冻融。
   - 2.4、 如果样品是实体组织或培养细胞，则需要在自备生理盐水中匀浆后离心，用 0.2 mL 上清液（含病毒）进行提取，但此种情况下最后得到的 RNA 不可避免的会含有基因组 DNA 污染。
   - 2.5、 如果是病毒样品保存液或病毒采样管，则直接取用 0.2 mL 保存液。

	2.6、 如果液体样品中的病毒需要富集，可以使用 1.5 mL 上述方法得到的液体在 4℃ 24,000×g 冷冻离心 60 分钟，移弃 1.3 mL、用剩下的 0.2 mL 继续操作。 3. 加入 0.6 mL 病毒裂解液，振荡 30 秒混匀。注意：病毒裂解液在 4℃放置后可能会产生沉淀，使用前必须放在 65℃水浴使沉淀彻底溶解并充分摇匀后再取用。 4. 室温放置 10 分钟。 5. 加入 0.8 mL 核酸挂柱液到离心管中，颠倒混匀后转移一半的混合液(0.8 mL)到硅胶膜离心吸附柱中。 6. 室温放置 2 分钟后 12,000×g 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把硅胶膜离心吸附柱放回到收集管中。 7. 将剩余的另外一半裂解液（0.8 mL）转移到硅胶膜离心吸附柱中。 8. 室温放置 2 分钟后 12,000×g 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把硅胶膜离心吸附柱放回到收集管中。 9. 加入 0.7 mL 通用洗柱液到硅胶膜离心吸附柱中，12,000×g 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把硅胶膜离心吸附柱放回到收集管中。 10. 加入 0.3 mL 通用洗柱液到硅胶膜离心吸附柱中，12,000×g 室温离心 1 分钟，弃收集管中的穿透液，把硅胶膜离心吸附柱放回到收集管中。此步为第二次洗涤，可以跳过。 11. 12000×g 室温离心半分钟，去掉硅胶膜离心吸附柱中残留的液体。 12. 在硅胶膜离心吸附柱的滤膜的中部加入 30-50 μL RNA 洗脱液，然后将硅胶膜离心吸附柱套入一新的 1.5 mL 离心管中. 13. 室温放置 2 分钟后 12,000×g 室温离心 1 分钟，离心管中收集的样品即为 RNA。 14. RNA 样品可以直接用于 RT-PCR 或逆转录反应，也可放-80℃长期保存。
关联产品	病毒 DNA 提取试剂（过柱法）